

09/02/037

CITATION 5

(19)日本国特許庁 (JP)

(12)公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平7-206402

(43)公開日 平成7年(1995)8月8日

(51) Int.Cl. ⁶	識別記号	府内整理番号	F 1	技術表示箇所
C 01 B 3/36				
A 61 K 35/20	ACS	7431-4C		

審査請求 未請求 請求項の数9 O.L (全5頁)

(21)出願番号 特願平6-269923	(71)出願人 390035390 バイオテスト・ファルマ・ゲゼルシヤフト・ミト・ベシュレンクテル・ハフツング ドイツ連邦共和国、ドライアイヒ、ラント シュタイネル ストラーゼ、5
(22)出願日 平成6年(1994)11月2日	(72)発明者 ウォルフガング・メーラー ドイツ連邦共和国、61440 オーベルウルゼル、グラーフー フォン・シュタウフ フエンペルクー ストラーゼ、32
(31)優先権主張番号 P 43 37 654 : 1	(72)発明者 ラインハルト・リッスナー ドイツ連邦共和国、63937 ゲンツー ウ アイルバッハ、ハウス、18
(32)優先日 1993年11月4日	(74)代理人 弁理士 江崎 光史 (外3名)
(33)優先権主張国 ドイツ (DE)	最終頁に続く

(54)【発明の名称】牛の初乳を肝臓保護用調剤として使用する方法

(57)【要約】

【目的】肝臓疾病に際しての肝機能障害の予防及び処置のための肝臓保護用調剤、中でも肝臓疾病的結果症、例えば門脈性脳症等の処置に有効な調剤を提供する。

【構成】牛科動物の初乳又は初乳調剤、或いはこれらから作った免疫グロブリン含有分画を肝臓保護用調剤として用いる。

1

【特許請求の範囲】

【請求項1】種々の肝臓病における肝臓機能障害及び／又は肝臓柔組織障害の系列の障害の予防及び処置のために牛の初乳を使用する方法。

【請求項2】初乳が牛の出産後の最初の5日間の間に採取される、請求項1の方法。

【請求項3】初乳が牛の出産後の最初の3日間の間に採取される、請求項1又は2の方法。

【請求項4】初乳が牛の出産後の最初の24時間の間に採取される、請求項1ないし3のいずれかの方法。

【請求項5】初乳の調剤がバクテリア及び毒素を充分に除去してある、請求項1ないし4のいずれかの方法。

【請求項6】脱脂された初乳を用いる請求項1ないし5のいずれかの方法。

【請求項7】脱脂し、そしてカゼインを充分に分離した、初乳を用いる請求項1ないし6のいずれかの方法。

【請求項8】脱脂し、カゼインを充分に分離し、そして100000Dよりも小さな分子量を有する蛋白質を充分に分離した、初乳を用いる請求項1ないし7のいずれかの方法。

【請求項9】初乳の調剤を細菌の少ない状態のもとで得て加工し、そして最後に滅菌濾過する、請求項1ないし8のいずれかの方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は牛科の動物の初乳又は初乳の調剤、或いはこれから作った免疫グロブリン含有分画を種々の肝臓病における肝臓機能障害の予防及び処置のために、中でもこれらの疾病の結果症、例えば門脈性脳疾患を回避するために使用する方法に関する。

【0002】肝臓は人の物質代謝において多面的な機能を有する。これらの機能には、なかでも胆汁の分泌、単糖類のグリコーゲンへの転化、グリコーゲン分解、各種蛋白質からの糖新生、脂肪酸分解、アミノ酸類の利用と脱アミノ化、種々の血漿蛋白質の生成及び有毒な物質代謝生成物の解毒並びに排除が含まれる。特に有毒な物質代謝生成物の一つはアンモニアであり、これはまず、腸内での種々の蛋白質の細菌による分解に際して、また肝臓自身の中での各種アミノ酸の分解に際して生ずる。アンモニアは健康な肝臓の中で尿素サイクルにより尿素に分解されるか、又はグルタミン酸により解毒される。

【0003】工業化した諸国においては人工の少なくとも1ないし2%は肝臓の柔組織障害に基づいて慢性的に肝不全にかかっている。この場合に急性及び慢性的肝炎に加えて、中でも脂肪肝及び肝硬変が際立っている。

【0004】肝炎は全ての肝細胞疾患を包含するが、これらは肝臓組織の、例えばウィルスや細菌による感染或いは医薬やアルコールによる中毒に基づく炎症性反応と関連している。急性肝炎の一部は慢性的な肝炎に移行し、これはまた更に肝硬変を導くことがある。

2

【0005】肝硬変は慢性的な肝臓病の1つである、柔組織の壊疽によって結合組織の増殖を含む柔組織置換に至る。ウィルス性肝炎に加えて、アルコール乱用は肝硬変出現の主原因である。

【0006】肝硬変は種々の型に分けられる。不活性な代償型においては中程度の肝細胞不全しか存在しない。活性型は急性異常的病勢増悪又は前昏睡又は昏睡までに達する重症の肝細胞不全によって特徴付けられる。最も重症の型、すなわち非代償性の硬変においては門脈高血圧、食道静脈瘤及び腹水が観測される。肝臓機能の崩壊を含む末期段階においてはほとんどの場合、食道静脈瘤からの出血により、又は肝性昏睡において死が訪れる。

【0007】

【従来の技術】肝臓病及び中でも肝硬変の末期段階の最近の処置方法はこの数年間において患者の平均余命がますます上昇し、そしてより重症の肝臓柔組織障害を有する患者がますます門脈高血圧の末期段階に達する結果をもたらしている。このような門脈鬱血においては肝臓内の機械的な血流阻害に基づいて門脈系内の高い圧力が生ずる。従って次に食道静脈瘤の出血及び門脈性脳症の臨床的症状に至る。

【0008】食道静脈瘤からの出血は外科的に処置することができ、そして同様に門脈高血圧を外科的処置によるバイパスの設置によって軽減することができるけれども、この方式によっては門脈性脳症が強められる。門脈性脳症においてはアンモニア及び他の蛋白質分解生成物による中毒に基づいて神経学的及び神經病理学的障害に至り、これらは中でもうつ病、疲労、発動性虚弱、失神にまで及ぶ意識障害において肝臓性昏睡が現れる。肝硬変疾患の30ないし40%は肝臓性昏睡において死亡する。

【0009】完全な肝臓機能を有する人の場合には通常、腸内で消化に際して生ずるアンモニア及び他の蛋白質分解生成物は肝臓の中で解毒される。門脈性高血圧のために周辺循環路が自然に形成されるか、又は外科的にバイパスとして形成されたときは、これらの有毒物質は肝臓を迂回して直接循環系内に達し、そしてそれにより直接脳に達する。結果として現れる欠落症状は外因性肝性欠落昏睡と呼ばれる。

【0010】内因性肝臓崩壊昏睡は、例えばウィルス性肝炎又は中毒による自然の解毒機能の損失を伴う広がった肝臓壊疽によって特徴付けられる。健康人のアンモニア水準は血漿100m1当たり約30ないし80μgに過ぎないが、この有毒物質は肝硬変疾患に際しては血漿100m1当たり500μgにまで上昇する。このように高い、従来治療の可能性がまったくなかった濃度においては既に最も重症の神経学的欠落症状が観測される。

【0011】ほとんどの場合に慢性的な肝臓病の原因療法は不可能であって、その治療計画において本質的に榮

養摂取の切り換え及び障害的な毒素（例えばアルコール）の排除に限定される。いわゆる肝臓保護用調剤は肝臓をその残余の物質代謝機能において負荷軽減し、それによって肝臓がその解毒作用をその生体のためにできるだけ利用できるようにするものである。

【0012】肝臓保護用調剤には、例えば炭水化物であるラクツロースや生きているラクトバシラスピヒズス菌を含むミルク等があげられるが、これらは腸内バクテリアによるアンモニアの生成を抑制し、そしてそのようにして肝臓の負荷を軽減するものである。これらの食事的処置の副作用は、放屁及び下痢である。ラクツロースの高い炭水化物含有量も問題である。

【0013】

【発明が解決しようとする課題】別な食事的方法として、アンモニア低下性のアミノ酸であるオルニチン及びアスパラギン酸を投与することにより尿素サイクル及びクエン酸サイクルに影響を与え、そして物質代謝生成物として生じたアンモニアの除去を助けることが研究されている。アミノ酸であるアスパラギン酸及びグルタミン酸もアミド化によりアンモニアを解毒することができる。しかしながらこのようなアミノ酸による治療は肝臓障害の早期の段階においてしか見込みがない。

【0014】更に、肝臓障害に際してアンモニアの生成を低下させるために、栄養摂取の枠内でアミノ酸のトレオニン、セリン、トリプトファン、ヒスチジン、グルタミン及びグリシンができるだけ排除するか、又は必須アミノ酸のトレオニン及びヒスチジンを最も必要なだけに限定することが研究されており、と言うのはこれらのアミノ酸は分解してアンモニアを生じ、そして血漿内のアンモニア水準を上昇させるからである。

【0015】アミノ酸及び蛋白質により食事的に処置することは常に、アンモニアの強い上昇を伴う窒素の供給と患者に必須アミノ酸を供給する必要性との間のバランスの行動である。患者はほとんどの場合、高カロリーの栄養摂取を指示されており、これには蛋白質も含まれている必要がある。従って、肝硬変患者はできるだけ長期間、特に蛋白質に富んだ栄養摂取を行ない、その際ながらも凝乳（ミルクのカゼイン）が好ましい。けれどもこれらの患者の場合、柔組織障害の進行に際して蛋白質許容値はますます強く低下しているので、これはまた血漿内のアンモニア水準の上昇をもたらす。従って、例えば正常牛乳（1kgのKGW当り0.5gの粉乳）の摂取は健康人及び肝硬変患者における血中アンモニア水準の上昇をもたらす【Gorski, M. 等：“Pol. Arch. Med. Wewn” 44(2), 115-9 (1970)】。

【0016】

【課題を解決するための手段】牛科動物の初乳からのはば同量の蛋白質を与えることにより、又はこの初乳からの乳清によって、肝硬変患者において血中アンモニア水

準が劇的に低下することが見出されたのは驚くべきことであった。このアンモニアの低下は部分的には自然の水準をもなお著しく下回る程である。

【0017】初乳とは牛の出産の後最初の5日間の牛乳である。好ましくはこの初乳は牛の出産の後最初の3日間のもの、そして特に好ましくは最初の日のものであり、と言うのはこの場合に免疫グロブリンの含有量が最も多く、そして初乳の中の種々の抗体にその有効性についての特別な意味があるからである。

10 【0018】初乳又は初乳の各種蛋白質分画を治療のために用いることは従来は本質的に、例えばE. Coli、ロタウィルス又はクリプトスポリジウムのようなバクテリア、ウィルス又は原生動物により引き起こされる下痢疾病の治療又は予防だけに限定されていた。例えばTacket, C. 等：“The New England Journal of Medicine” 318, 1240 - 1243 (1988)、Davidson, G. 等“The Lancet” 23, 9, 1989, 709-712 及びRump, J. 等“Clin. Investig.” 70, 588-594 (1992) 等に記述されている。

【0019】Prokopiv, M. : “Vrach Delo” 4, 100 - 102 (1988)により、中枢神経系の炎症的疾病的多発性硬化症を有する患者において6週間にわたり人の初乳を1日2回500mlづつ与えることによって、肝臓酵素アラニンーアミノトランスフェラーゼ、アスパラギン酸-アミノトランスフェラーゼ及びソルビットデヒドロゲナーゼの血漿中濃度を容易に低下できたことが示された。これらの患者

30 においては肝臓疾病についての兆候はまったくなく、この膜に固定した肝臓酵素は、一般に多発性硬化症に際して見出される高められた膜透過性に基づいて血漿の中に放出される。他の点ではその組成において牛の初乳と大きく異なっている人の初乳は、従って多発性硬化症に際しての膜欠陥の防止のための種々の支持療法に適している。膜透過性の上昇のみならず、大きな細胞変性及び細胞崩壊がもたらされるような種々の肝臓病における牛科動物の初乳の治療的作用及び、なかでも、蛋白質分解生成物の有毒な効果に対抗する治療的作用はこれまで記述されていない。

【0020】しかしながら、牛科動物の初乳を経口投与又は腸内投与することにより、例えばアンモニアのような有毒な蛋白質代謝生成物を減少させることができたり、またこれらの物質に対する肝臓の解毒機能を改善できると言う発見はこれまで知られておらず、驚くべきことであった。

【0021】これによって、例えばアンモニアのような蛋白質分解生成物が血中に大量に現れるような、蛋白質供給の有害作用を恐れる必要なく、患者に大量の蛋白質、また従って必須アミノ酸を供給することが可能にな

る。

【0022】本発明に従う処置は、例えばヨーロッパ特許出願E P 0 3 3 8 2 2 9 及び E P 4 7 1 8 9 0 に記述されているように、好ましくは牛科動物の初乳又は初乳の乳清を用いて行なわれる。

【0023】最適の保護作用を發揮させるためにはその調剤は細菌類を含まないか、又は少なくとも細菌類の存在が少なくななければならない。そうでなければその初乳のバクテリアによる汚染により、またその際放出される有毒物質によってその治療効果が無効になることがあるであろう。

【0024】初乳の滅菌及び細菌の除去に際してはその初乳の中の各種蛋白質の原始性に注意する必要があり、と言うのは無垢で生のままの蛋白質のみが肝臓に対する保護作用を發揮できるからである。好ましくは細菌の除去を滅菌濾過によって達成するのがよく、と言うのはその場合に各種の細菌類がその菌体から有毒物質の遊離される危険を生ずることなく確実に分離されるからである。

【0025】場合によっては、例えば低分子量蛋白質及び他の、1 0 0 0 0 0 D よりも小さな分子量を有する成分を限外濾過により除去する追加的な分画によって初乳を精製してもよい。

【0026】患者の処置は好ましくは1日に何度も行ない、その際その初乳調剤を1 0 0 m l 当り2 g ないし2 0 g、好ましくは1 0 0 m l 当り1 0 g の蛋白質含有量を有する溶液として飲用する。特別な場合にはまた、胃内ゾンデ又は十二指腸ゾンデを介して適用を行なうこともできる。重症の肝硬変の場合の治療的投与量としては1日あたり1 0 %濃度溶液の1 0 0 ないし6 0 0 m l の投与がほとんどの場合に充分であるが、比較的軽い経過型においてはより少ない量を投与することもできる。

【0027】本発明に従い処置することのできる肝臓病は、肝臓炎症、ウィルス性肝炎、中毒性肝細胞障害、肝繊維症、肝硬変、懶血肝、肝臓異常栄養、肝臓細胞の脂肪性変性又は脂肪肝である。これらの疾病によりもたらされる、処置することのできる障害及び損傷は肝臓の解毒機能障害、排泄機能障害、肝臓の接合機能障害、肝臓の合成機能障害、肝臓病によりもたらされる門脈高血圧又は肝性欠落昏睡並びに蛋白質分解生成物やアンモニアによる中毒である。すなわち、例えば門脈大動脈吻合の際のような門脈バイパス形成手術後の容態におけるアンモニアによる中毒等を処置することができる。

【0028】本発明に従う初乳調剤の使用方法は予防的にも可能である。なかでもウィルス性肝炎や肝臓柔組織障害に基づく肝不全の初期において肝臓の負担が軽減され、そしてその解毒機能は肝臓の接合機能及び排泄機能の改善によって改善され、それにより肝臓の壊死性変質は遅延される。診断的にはこれは、なかでもビリルビンの血漿中濃度及び肝臓酵素である細胞内酵素ヤーグルタ

ミルトランスフェラーゼ (GGT) の血漿中濃度の明らかな低下において現れるが、これは種々のアミノ酸やペプチド類の物質代謝に際して重要な役割を演じ、そして肝細胞崩壊に際して血漿中へ移る。更に、例えばトランスフェリンのような血漿蛋白質の合成の上昇が見出される。このようにして門脈性脳症の末期段階を引き伸ばすことができる。

【0029】同様に、肝繊維症、懶血肝、肝臓異常栄養及び肝臓の脂肪性変性を処置することができる。本発明に従う初乳調剤の使用によって肝臓の負荷が軽減される。一般にこの血中アンモニア含有量の上昇の遅延又は回避は神経学的な欠落の改善又は回避を伴って現れる。

【0030】肝臓既往症を有する患者の対応的な予防処置によって血中アンモニアの上昇を避けることができ、それによりこのような欠落症状を防止することができる。肝臓移植に際しての術前処置及び術後処置のためにもこの牛科動物の初乳を肝臓保護調剤として使用することが可能であり、それによりその障害を受けた肝臓の移植前の解毒機能や、障害性代謝生成物による移植後の新しい肝臓の負荷を軽減することができる。

【0031】

【実施例】以下に本発明を実施例により説明する。

例1

肝硬変のもとに門脈高血圧に罹っている45才の男性を重症の食道静脈瘤のために入院させた。出血に基づく循環ショックの結果としてこの患者に肝機能障害が現れた。血中アンモニア水準は1 7 0 μg / d l に上昇した。この患者は門脈性脳症の症状を示した。

【0032】次にこの患者に胃ゾンデにより、1 5 g の凍結乾燥した牛の初乳の乳清調剤を毎日4回投与した。この調剤は牛の出産の後の最初の搾乳からの初乳より遠心分離により脱脂し、pH 4. 5において塩酸によりカゼインを沈殿させ、この乳清を限外濾過及び滅菌濾過し、そして次に乾燥することによって得られたものである。この調剤を0. 9 %濃度食塩水溶液中の1 0 %濃度溶液として適用した。2 4 時間以内に血中アンモニア水準は1 0 μg / d l まで低下し、そして5日間の治療の間、正常範囲(3 0 ないし8 0 μg / d l)に留まった。

【0033】患者の容態はこの初乳蛋白質の投与のもとに目に見えて改善された。患者は1日後に既にもはやなんらの神経学的欠落症状を示さず、そして正常に応答することができた。血中アンモニアはこの初乳調剤による治療のもとで低く留まっていた。

【0034】副作用は起こらなかった。このことは、このような型の患者の場合に通常はアンモニア水準の上昇とともに蛋白質許容値の低下が観測されるはずであるということを考えると特に驚くべきことであった。

【0035】同じ病状を有するが初乳調剤の投与を受けるかわりに従来法でラクトロースにより処置された2 1

人の患者よりなる対照群の患者においては、全観察期間にわたり変わらない200ないし300 $\mu\text{g}/\text{dl}$ の高いアンモニア水準が見出された。

例2

肝硬変を有する58才の男性を同様に重症の食道静脈瘤のために処置した。この患者は例1におけると同様に出血の結果として肝臓機能障害を伴う出血性ショックを起こした。血中アンモニア水準は入院の直後には270 $\mu\text{g}/\text{dl}$ であった。

【0036】例1と同じ初乳調剤の毎日3回15gを用いた治療のもとに血液のアンモニア含有量は90 $\mu\text{g}/\text{dl}$ に低下し、そして4日間の治療の間中、この標準範囲をかろうじてわずかに超える水準に留まった。

例3

肝硬変に基づき術後に重症の肝機能障害を起こした50才の婦人はこの時点において350 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の非常に高い血中アンモニア水準を示した。

【0037】この患者に例1の初乳調剤を5日間にわたり1日3回、15gづつ投与した。この治療のもとに24時間以内に120 $\mu\text{g}/\text{100 ml}$ へのアンモニアの明瞭な低下が観測された。肝臓機能障害の臨床的徵候は初乳治療のもとにプラスの影響を受け、そして患者の治療前の非常に悪い精神状態はこの初乳調剤の投与のもとに急速に改善された。

*例4

48才の男性の場合に、手術的治療の3日後に高い血漿中アンモニア値を含む固執的な肝硬変とともに肝不全を起こした。

【0038】この患者に問診を介して、例1の初乳調剤を毎日4回、15gづつ4日間にわたり投与した。この治療のもとに17時間以内に既に、254 $\mu\text{g}/\text{100 ml}$ から126 $\mu\text{g}/\text{100 ml}$ への急速で明瞭なアンモニアの低下が観測された。4日間の初乳調剤による治療の後で血中アンモニア水準は108 $\mu\text{g}/\text{100 ml}$ であった。肝機能障害の臨床的徵候は初乳調剤による治療のもとにプラスの影響を受けた。初乳調剤の中止によって血中アンモニアは2日間以内に再び250 $\mu\text{g}/\text{100 ml}$ に上昇した。

【0039】この省略試験は治療の時点に限定された血中アンモニア水準の低下によって牛の初乳による治療の有効性を印象深く示している。

例5

44才の患者の場合に、術後に固執的な肝硬変に基づき肝不全を起こした。

【0040】例1と同様な初乳の乳清調剤をそれぞれ200mlの水に溶解させたもの20gの3回による3日間の治療の治療の前、第1日目及び第3日目に下記の表1にあげた実験室パラメータを測定した。

表 1

	治療前	24時間後	72時間後
GGT (U/l) トランスフェリン (mg/100ml)	105 119	97 140	78 152

GGTはこの治療のもとに低下するが、一方肝臓の合成性能はトランスフェリン水準の上界に見ることができるように再び上昇する。

例6

9才の少年が肝炎により血漿中の病的に高いGGT値を有した。例1と同様な10%濃度の初乳の乳清溶液を毎日2回100mlづつ投与した後で数日間以内にこの肝臓酵素についての値はGGTについて53 U/mlから21 U/mlに低下し、そしてこの療法のもとにこの範囲内に比較的一定に留まった。

【0041】この調剤を廃止した後、10週間後にその値は再び68 U/mlに上昇した。

フロントページの続き

(72)発明者 ディートリッヒ・ニッティエ
ドイツ連邦共和国、24105 キール、ビスマルクアレー、18